

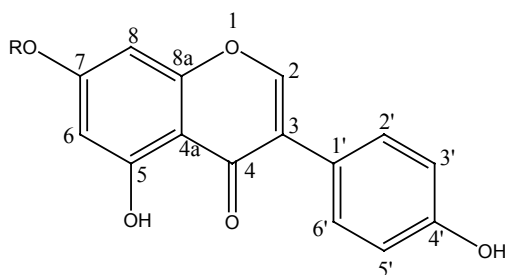
放線菌培養物からの新規活性物質の探索

生命分子化学講座 木質生命化学分野
山田祐輔

【背景と目的】放線菌の中でも *Sreptomycetes* 属は放線菌の大部分を占め、トウトマイセチン(tautomycetin, TC)を含め多くの生理活性物質が単離・同定されている。TC は *Str. griseochromogenes* の培養液から単離され、セリン/スレオニンプロテインホスファターゼ 1 型(PP1)に対する特異的阻害剤として細胞生物学に於ける有用なツールとなることが証明されてきた。本研究では、当概放線菌の自然変異株をスクリーニングすることにより、TC 類縁体などの新規活性物質を得ることを目的とした。

【実験】採取した放線菌株をそれぞれ 5 mL の液体培地で 6 日間振とう培養(28 °C, 170 rpm)し、抽出後、活性を評価した。新規化合物の指標として、PP1 阻害活性を持たないが、細胞死誘導活性を示す化合物を生産する菌株のスクリーニングを行った。スクリーニングにより得られた放線菌株を 700 mL の液体培地で培養し、抽出を行った。得られた抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(メタノール/クロロホルム, 5-100%)により 100 mL ずつ分画し、8 画分を得た。得られた画分を HPLC により分取し、質量分析及び NMR により構造決定を目指した。

【結果と考察】採取した 120 株のうち、PP1 阻害活性が低く、HeLa 細胞に対して顕著な細胞死毒性活性を示す化合物の産生株を得ることができた。得られた菌株を液体培養後、抽出し、抽出物 1.50 g を得た。この抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分画し 8 画分を得た。この 8 画分の細胞死誘導活性を測定した結果、画分 5 に最も強い細胞死誘導活性を確認した。この画分 5 を HPLC に供し、化合物 A 4.9 mg を分取した(図 2)。NMR による分析の結果、化合物 A にはゲニステイン骨格が含まれることを確認した。しかし、質量分析(FD-MS)により、 $m/z = 522$ が観測され、 ^{13}C -NMR における 7 位のシフト値のみ文献値との差が大きいことから、7 位に置換基を持つと推定した。ゲニステイン骨格を有する $m/z = 522$ の条件で文献調査を行ったところ、合成誘導体として 7 位のマルガリン酸(ヘプタデカン酸, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{COOH}$)エステル縮合物の存在が示唆された。ゲニステインとマルガリン酸のエステル縮合物を合成し、単離した化合物と比較したところ、 ^1H -NMR のスペクトルはほぼ一致したが、 ^{13}C -NMR のスペクトルは完全には一致しなかった。この化合物の置換基はマルガリン酸と非常に類似した脂肪酸であると考えられる(図 1)。現在、脂肪酸部分の構造決定にむけて検討を行っている。



ゲニステイン : R = H

化合物 A : R = 脂肪酸

図 1. ゲニステイン及び化合物 A の構造

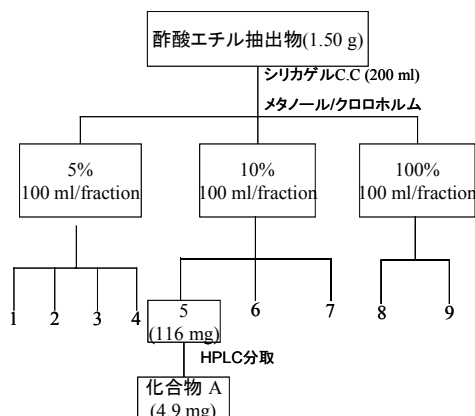


図 2. 化合物の単離